

Angiogenese og maligne blodsykdommer

Sammendrag

Bakgrunn. Det er gode holdepunkter for å anta at progrediering og metastasering av solide kreftsvulster ledsages av økt blodtilførsel som følge av nydanning av blodårer. Økt angiogenese finner sted også i beinmargen ved malign blodsykdom, men effekten av antiangiogenetisk behandling er ukjent.

Materiale og metode. En kort oversikt over angiogenese og maligne blodsykdommer presenteres, basert på litteratur hentet fra databasene PubMed og Medline. I tillegg gjengis egne forskningsresultater.

Resultater. Surrogatmarkører for økt angiogenese, slik som plasmakonsentrasjoner av angiogenetiske vekstfaktorer og kartetthet i beinmargen, er assosiert med dårligere prognose og lavere behandlingsrespons hos pasienter med malign blodsykdom. Det er ingen sikre data som gir holdepunkter for at antiangiogenetisk terapi er gunstig hos disse pasientene, men resultater fra dyreforsøk er lovende.

Fortolkning. Progrediering og spredning av maligne blodsykdommer er assosiert med økt nydanning av blodkar i beinmargen. Hemming av komponenter involvert i den angiogenetiske prosess kan kanskje bli et tillegg til annen terapi hos pasienter med slike sykdommer.

Engelsk sammendrag finnes i artikkelen på www.tidsskriftet.no

Per Ole Iversen

poiversen@hotmail.com
 Institutt for ernæringsforskning
 Universitetet i Oslo
 0316 Oslo
 og
 Hematologisk avdeling
 Ullevål universitetssykehus

August Krogh var blant de første som systematisk studerte blodtilførselen og dermed oksygentransporten til vev (1). Basert på hans nitide observasjoner av hvorledes injisert blekk ble fordelt i ulike deler av enkelt-skjelettmuskelfibrer, utviklet man Kroghs sylindermode (2). Ifølge denne modellen er avstanden fra det enkelte blodførende kapillar til mitokondriet i målcellen den viktigste begrensende faktor for oksygenets diffusjon fra karbanen til vevets celler. Nyere forskning har vist at diffusjonsavstand er kritisk for oksygentilførselen også til kreftsvulster (3).

Den angiogenetiske hypotese

Folkman postulerte for mer enn 30 år siden at initieringen og den tidlige utviklingen av en kreftsvulst foregikk ved hjelp av oksygendiffusjon fra et allerede eksisterende karnett (4). Ved en viss kritisk størrelse ville vekst og metastasering fordrø økt nydanning av blodårer. Dette er senere blitt kjent som den angiogenetiske hypotese. Negative og positive regulatorer av angiogenesen er innbyrdes i balanse i friskt vev, mens effekten av de proangiogenetiske faktorer dominerer under malignitetsutvikling. Noen av de isolerte faktorene har også andre egenskaper enn bare å påvirke angiogenese (5, 6).

Det er to sett av eksperimentelle data som tilhengerne av hypotesen fremfører (7):

- Man implanterte kreftceller i chorionmembranen fra kyllingfostre og observerte en sterk vekst. Etter okklusjon av blodårene i chorionmembranen flatet vekstkurven ut.
- Etter implantasjon av hurtigvoksende kreftsvulster på avaskulære hornhinner avtok veksthastigheten raskt. Dersom man så sørget for kunstig blodtilførsel til disse kreftsvulstene, begynte de igjen å vokse hurtig.

Senere er det vist at 20 % oksygen i omgivende luft forserte modningen av ulike forstadier til blodceller sammenliknet med celler som kun fikk 5 % oksygen (8). Leukemiceller isolert fra rotter, derimot, beholdt sin prolifera-

tive evne selv under anoksiske forhold, i motsetning til normale beinmargsceller (9).

Antiangiogenese som behandling av kreftsvulster

Etter hvert som de enkelte proangiogenetiske faktorene er blitt renfremstilt og deres reseptorer identifisert, har man selektivt hemmet virkningen av disse ved hjelp av blant annet antistoffer og løselige reseptorer. Man har også påvist naturlig forekommende hemmere.

Man ville forvente at antiangiogenetisk behandling skulle gi færre og mindre alvorlige bivirkninger fordi angrepspunktet ikke er den genetisk ustabile kreftcellen, men den genetisk stabile endotelcellen. Utvikling av resistens skulle dermed bli et mindre problem. Dette er vist i mus med lungekreft som fikk behandling med den endogene angiogenesehemmeren endostatin. Under behandling avtok svulstenes størrelse, for så å vokse igjen etter avsluttet behandling. Dette kunne gjentas i flere omganger (10). Det pågår nå en rekke fase 1-, fase 2- og fase 3-utprøvnin-ger, men ingen terapi er hittil vist å ha sikker effekt (11).

Angiogenese og hematologiske neoplasier

I slutten av 1990-årene begynte man å stille spørsmål om angiogenese er viktig for utvikling og vekst av hematologiske neoplasier. For å vise dette stod man overfor et problem: Hvordan kvantifisere angiogenese? I de første studiene benyttet man seg av surrogatmarkører som genekspressjon eller plasmanivåer av angiogenetiske vekstfaktorer, f.eks. vaskulær endotelial vekstfaktor (VEGF) (12). Bellamy og medarbeidere påviste genekspressjon av denne vekstfaktoren i humane cellelinjer fra lymfomer, leukemier og myelomatose (13). Tilsvarende observasjoner ble gjort med primære maligne celler fra pasienter med akutt myelogen leukemi (14).

! Hovedbudskap

- Vekst og spredning av blodkreftsykdommer er assosiert med økt angiogenese
- Økt angiogenese predikerer dårligere prognose ved disse sykdommene
- Det er i dag intet dokumentert antiangiogenetisk tilbud i kreftbehandling

Studier har vist at høye plasmakonsentrasjoner av vaskular endotelial vekstfaktor predikerer en dårligere prognose sammenliknet med lave konsentrasjoner hos pasienter med non-Hodgkins lymfom (15) eller akutt myelogen leukemi (16, 17), men ikke hos pasienter med myelodysplasi (17). Hovedinnvendingen mot slike studier er at man ikke kan være sikker på en kausal sammenheng mellom sykdomsomsfang og plasmakonsentrasjon av én enkelt vekstfaktor. I tillegg er plasmakonsentrasjonen oftest bestemt med immunologiske teknikker, hvilket ikke sier noe om biologisk aktivitet. Det er derfor interessant at blokade av både murin og human vaskulær endotelial vekstfaktor og vekstfaktorreseptor var nødvendig for å oppnå langtidsremisjon hos mus med human leukemi (18).

Direkte kvantifisering av angiogenese

Et direkte og mer biologisk relevant mål på angiogenese er telling av antall kapillarer. Det foreligger en rekke studier der denne teknikken er blitt benyttet i solide kreftsvulster (19), og nylig er det også gjort ved hematologiske kreftsykdommer. Man farget beinmargpreparater med antistoffer mot overflatemarkører for endotelceller i kapillarer/sinusoider.

Hussong og medarbeidere påviste økt kartetthet hos pasienter med akutt myelogen leukemi (20). Tilsvarende funn ble gjort av Padro og medarbeidere, som også viste at økt kartetthet var forbundet med dårligere respons på kjemoterapi hos pasienter med akutt myelogen leukemi (21).

En økning av antall kapillarer/sinusoider i beinmargen indikerer dårligere prognose hos pasienter med kronisk lymfatisk leukemi (22) eller med myelomatose (23, 24).

Usikkerheten med slike kartellinger knytter seg blant annet til å vite sikkert at den markør man benytter, er selektiv for vaskulært endotel i beinmargen. Hvorvidt antall kar i seg selv er et godt mål, er også omdiskutert. Det er holdepunkter for at glioblastomer, som er rikt vaskulariserte svulster, kan ha svært forskjellig kartetthet selv om de tilsynelatende har respondert klinisk likt på kjemoterapi og har bildediagnostisk samme makroskopiske størrelse (19). Det er også observasjoner som tyder på at de morfologiske og funksjonelle egenskapene til tumorkar er annerledes enn hos kar hentet fra normalt vev (25). Endotelceller i normale kar er stabile i årevis, mens endotelceller fra tumorkar har en halveringstid på kun noen få dager (26, 27).

Antiangiogenetisk behandling av maligne blodsykdommer

Det foreligger i dag ingen etablert antiangiogenetisk behandling av maligne blodsykdommer. Det er mulig at kjente komponenter innen kjemoterapi også kan utøve en viss antiangiogenetisk effekt, slik som antatt for thalidomid i behandlingen av myelomatose (28).

Scappaticci og medarbeidere fant at sam-

tidig behandling av leukemi hos mus med angiogenesehemmerne angiostatin og endostatin var mer effektivt enn å gi bare ett av disse stoffene (29). Tilsvarende kunne vi nylig vise at kombinert behandling med endostatin og oligosakkaridet PI-88 var mer effektivt enn monoterapi i behandlingen av akutt myelogen leukemi hos rotte og juvenil kronisk myelocytteleukemi hos mus (30).

Blant de nyere beskrevne vekstfaktorene som er vist å ha pro-angiogenetiske egenskaper, er leptin. Dette ble opprinnelig karakterisert som et energi- og fettreguleringshormon (31). Nyere data tyder på at dette cytokinet ikke bare stimulerer vekst av hematopoetiske celler (32), men også angiogenese (33, 34). Vi behandlet rotter med akutt promyelocytteleukemi med et nøytraliserende monoklonalt antistoff rettet mot leptinreseptoren (35). Både antall leukemiceller og antall kar i beinmargen ble kraftig redusert. Det viste seg at disse leukemicellene manglet en funksjonell leptinreseptor. Behandling av leukemiske rotter som nativt har en mutert og dermed ikke-funksjonell leptinreseptor, hadde ingen effekt. Disse helt nye funnene viser enda tydeligere at leptin er en viktig vekstfaktor for nydanning av kar, og indikerer en mulig sammenheng mellom fett-/energistoffskifte og kreftutvikling. Hos pasienter med akutt promyelocytteleukemi har man også sett en assosiasjon mellom kroppsmasseindeks og utbredelse av sykdommen (36).

Oppsummering

Det er holdepunkter for å anta at antall blodårer øker under progrediering av både solide kreftsvulster og maligne blodsykdommer. Det er uklart hvor viktig denne prosessen er for kreftens aggressivitet. En reduksjon i kartettheten kan være relatert til prognose hos pasienter med leukemi eller myelomatose. Eksperimentelle studier har vist at farmakologisk reduksjon i kartetthet kan redusere antall maligne celler ved hematologiske neoplasier. Antiangiogenetisk intervensjon vil mest sannsynlig komme som tillegg til annen terapi.

Litteratur

1. Krogh A. The supply of oxygen to the tissues and the regulation of the capillary circulation. *J Physiol* 1919; 52: 457–74.
2. Levick JR. Solute transport between blood and tissue. I: Levick JR, red. *An introduction to cardiovascular physiology*. London: Butterworths, 1991: 137–8.
3. Helmlinger G, Yuan F, Dellian M, Jain RK. Interstitial pH and pO₂ gradients in solid tumors in vivo: high-resolution measurements reveal a lack of correlation. *Nat Med* 1997; 3: 177–82.
4. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971; 285: 1182–6.
5. Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996; 86: 353–64.
6. Sørensen DR. Experimental therapy of a rat gliosarcoma with special emphasis on angiogenesis. Doktoravhandling, Oslo: Avdeling for komparativ medisin, Rikshospitalet, Universitetet i Oslo, 2002.
7. Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 4–6.

8. Laluppa JA, Papoutsakis ET, Miller WM. Oxygen tension alters the effects of cytokines on the megakaryocyte, erythrocyte, and granulocyte lineages. *Exp Hematol* 1998; 26: 835–43.
9. Jensen PØ, Mortensen BT, Hodgkiss RJ, Iversen PO, Christensen IJ, Helledie N et al. Increased cellular hypoxia and reduced proliferation of both normal and leukaemic cells during progression of acute myeloid leukaemia in rats. *Cell Prolif* 2000; 33: 381–95.
10. Boehm T, Folkman J, Browder T, O'Reilly MS. Antiangiogenic therapy of experimental cancer does not induce acquired drug resistance. *Nature* 1997; 390: 404–7.
11. Rosen L. Antiangiogenic strategies and agents in clinical trials. *The Oncologist* 2000; 5 (suppl 1): 20–7.
12. Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, Rudge JS, Wiegand SJ, Holash J. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* 2000; 407: 242–8.
13. Bellamy WT, Richter L, Frutiger Y, Grogan TM. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in hematopoietic malignancies. *Cancer Res* 1999; 59: 728–33.
14. Fiedler W, Graeven U, Ergun S, Verago S, Kilic N, Stockschrader MDK. Vascular endothelial growth factor, a possible paracrine growth factor in human acute myeloid leukemia. *Blood* 1997; 89: 1870–5.
15. Bertolini F, Paolucci M, Peccatori F, Cinieri S, Agazzi A, Ferrucci PF et al. Angiogenic growth factors and endostatin in non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol* 1999; 106: 504–9.
16. Aguayo A, Estey E, Kantarjian H, Mansouri T, Gidel C, Keating M et al. Cellular vascular endothelial growth factor is a predictor of outcome in patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 1999; 94: 3717–21.
17. Aguayo A, Kantarjian HM, Estey EH, Giles FJ, Verstovsek S, Mansouri T et al. Plasma vascular endothelial growth factor levels have prognostic significance in patients with acute myeloid leukemia but not in patients with myelodysplastic syndromes. *Cancer* 2002; 95: 1923–30.
18. Dias S, Hattori K, Heissig B, Zhu Z, Wu Y, Witte L et al. Inhibition of both paracrine and autocrine VEGF/VEGF-2 signaling pathways is essential to induce long-term remission of xenotransplanted human leukemias. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 10857–62.
19. Hlatky L, Hahnfeldt P, Folkman J. Clinical application of antiangiogenic therapy: microvessel density, what it does and doesn't tell us. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 883–93.
20. Hussong JW, Rodgers GM, Shami PJ. Evidence of increased angiogenesis in patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2000; 95: 309–13.
21. Padro T, Ruiz S, Bieker R, Burger H, Steins M, Kienast J et al. Increased angiogenesis in the bone marrow of patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2000; 95: 2637–44.
22. Molica V, Vacca A, Ribatti D, Cuneo A, Cavazzini F, Levato D et al. Prognostic value of enhanced bone marrow angiogenesis in early B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002; 100: 3344–51.
23. Pruneri G, Ponzoni M, Ferreri AJ, Decarli N, Trosoldi M, Raggi F et al. Microvessel density, a surrogate marker of angiogenesis, is significantly related to survival in multiple myeloma patients. *Br J Haematol* 2002; 118: 817–20.
24. Kumar S, Fonseca R, Dispenzieri A, Lacy MQ, Lust JA, Witzig TE et al. Bone marrow angiogenesis in multiple myeloma: effect of therapy. *Br J Haematol* 2002; 119: 665–7.
25. McDonald DM, Baluk P. Significance of blood vessel leakiness in cancer. *Cancer Res* 2002; 62: 5381–5.
26. Denekamp J. Angiogenesis, neovascular proliferation and vascular pathophysiology as targets for cancer therapy. *Br J Radiol* 1993; 66: 181–96.
27. Folkman J. Clinical applications of research on angiogenesis. *N Engl J Med* 1995; 333: 1757–63.
28. Waage A, Seidel C. Thalidomid – fryktet medikament med nye bruksområder. *Tidsskr Nor Lægeforen* 2001; 121: 2954–7.

>>>

29. Scappaticci FA, Smith R, Pathak A, Schloss D, Lum B, Cao Y et al. Combination angiostatin and endostatin gene transfer induces synergistic anti-angiogenic activity in vitro and antitumor efficacy in leukemia and solid tumors in mice. *Mol Ther* 2001; 3: 186–96.
30. Iversen PO, Sørensen DR, Benestad HB. Inhibitors of angiogenesis selectively reduce the malignant cell load in rodent models of human myeloid leukemias. *Leukemia* 2002; 16: 376–81.
31. Reseland JE, Hollung K, Drevon CA. Leptin – fettvevshormon med mange funksjoner. *Tidsskr Nor Lægeforen* 1999; 119: 2024–7.
32. Fantuzzi G, Faggioni R. Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. *J Leuk Biol* 2000; 68: 437–46.
33. Sierra-Honigmann MR, Nath AK, Murakami C, Garcia-Cardena G, Papapetropoulos A, Sessa WC et al. Biological action of leptin as an angiogenic factor. *Science* 1998; 281: 1683–6.
34. Cao R, Brakenheim E, Wahlestedt C, Thyberg J, Cao Y. Leptin induces vascular permeability and synergistically stimulates angiogenesis with FGF-2 and VEGF. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 98: 6390–5.
35. Iversen PO, Drevon CA, Reseland JE. Prevention of leptin binding to its receptor suppresses rat leukemic cell growth by inhibiting angiogenesis. *Blood* 2002; 100: 4123–8.
36. Estey E, Thall P, Kantarjian H, Pierce S, Kornblau S, Keating M. Association between increased body mass index and a diagnosis of acute promyelocytic leukemia in patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia* 1997; 11: 1661–4.